

H. J. Nickel.
Frankfurt 'M. 1976.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550826_0039

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Charakterisierung der "Hairy Cells" mit Hilfe
der trägerfreien, kontinuierlichen Zellelektrophorese.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
gesamten Medizin des Fachbereiches
Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-
Universität Frankfurt am Main

Befürworter: Prof. Dr. J. Schabert

Korreferent: Prof. Dr. G. Müller



Tag der öffentlichen Verteidigung: 15. April 1976

vorgelegt von
Hans-Joachim Nickel
aus Chemnitz

Frankfurt am Main 1976

aus dem Tode der Inschrift
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Über die Bedeutung der "Herkunft" und die
auf die Entwicklung, kulturellen, politischen, sozialen

Inschrift-Stein
aus der Zeit der Entstehung der
ersten Medizin der Geschichte
Hauptstadt der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Universität Frankfurt am Main



verlegt von
Hans-Joachim Michel
am 1. Januar

Frankfurt am Main 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Literaturverzeichnis	2
Kurzleiste	4
Material und Methodik	11
Ergebnisse	15
Legenden und Abbildungen	18
Diskussion	39
Zusammenfassung	32
Schrifttumverzeichnis	33

Lebenslauf

Herrn Dr. Dekan : Prof. Dr. H. J. Müller

Referent : Prof. Dr. J. Schubert

Korreferent : Prof. Dr. K. Hübner

Tag der mündlichen Prüfung : 19. Mai 1976

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Literaturübersicht	2
Kasuistik	8
Material und Methodik	11
Ergebnisse	16
Legenden und Abbildungen	18
Diskussion	30
Zusammenfassung	32
Schrifttumverzeichnis	33
Lebenslauf	
Ehrenwörtliche Erklärung	

EINLEITUNG

Unter den lymphatischen Systemerkrankungen kann auf Grund morphologischer Kriterien - der Nachweis haarförmiger Zytoplasmafortsätze - eine Leukämieart abgegrenzt werden, die man eben wegen dieser Fortsätze als Haarzell-Leukämie bezeichnet (5,15,24,26,27,28,30). Schon über ihre Nomenklatur herrscht in der Literatur keine Einigkeit. Die meisten Autoren rechnen die "hairy-cells" der lymphatischen Reihe zu (5,8,17,24), jedoch wird auch ihre Zugehörigkeit zu den Monocyten diskutiert (4,14). Auch bezüglich der Morphologie herrschen keine einheitlichen Meinungen, so kennt man verschiedene Unterformen. Deswegen wird mit dieser Arbeit der Versuch unternommen, mit Hilfe der trägerfreien kontinuierlichen Zellelektrophorese nach HANNIG die leukämischen Zellen zu trennen und die erhaltenen Fraktionen anschließend morphologisch und funktionell zu charakterisieren.

LITERATURÜBERSICHT

Die Bezeichnung "Hairy-Cell - Leukämie" (HCL) hat sich heute bei den meisten Autoren durchgesetzt. Sie geht ursprünglich auf SCHREK und DONNELLY (30) zurück, die 1966 auf Grund der Zellmorphologie den Begriff "Hairy Cell" (HC) geprägt hatten.

Von verschiedenen Autoren wurde die Krankheit mit anderen Namen belegt:

Leukemic reticuloendotheliosis (7,19,20,22,33,36,37)
Chronic reticulolymphocytic leukemia (29)
Neoplastic lymphoid reticulum cells in the blood (25)
Myélofibrose lymphoide (11,12,13)
Histio - lymphocytose médullaire et splénique d'apparence primitive (4)
Reticulose histiolympocytaire avec myélofibrose (1)
Reticulum cell leukemia (34).

In der angloamerikanischen und französischen Literatur wurden seit 1958 über 100 Fälle beschrieben. Neuerdings mehren sich auch im deutschen Schrifttum Beobachtungen zu diesem Krankheitsbild (5,24,26). Von BRAUNSTEINER und Ma. (5) wird die Häufigkeit der HCL mit 3 % aller akuten Leukämien angegeben.

Nach den bisherigen Beobachtungen tritt die HCL überwiegend bei Männern (männlich/weiblich = ca 5/1) der mittleren Altersgruppe (40 bis 60 Jahre) auf und wurde bisher bei Kindern noch nicht beobachtet. Der Beginn einer Erkrankung an HCL ist meistens nicht eindeutig zu bestimmen, da die klinischen Symptome uncharakteristisch sind. Die meisten Patienten klagen über Leistungsminderung, Müdigkeit; Neigung zu Infekten, sowie Druckgefühl und Schmerzen im linken Oberbauch. Letztere sind durch die Splenomegalie erklärbar, die in 75-100 % der Fälle gefunden wird, in der Hälfte der Fälle sind Riesenmilzen vorhanden. Die Leber ist in etwa 50 % der Fälle, und dann immer mäßig vergrößert, palpabel. Lymphknoten werden sogar nur in etwa 25 % der Fälle getastet. Allerdings scheint der Befall retroperitonealer Lymphknoten durch die bei dieser Erkrankung bisher selten durchge-

föhrte Lymphographie h4ufiger festgestellt werden zu k4nnen (4,7,26). In zwei F4llen beschrieb PLENDERLEITH (27) eine meningeale Aussaat. Recht einheitlich stellen sich die h4matologischen Befunde dar. Die Pancytopenie mit unterschiedlicher HC-Vermehrung im Blut schwankt in ihrem Ausma3 und hat als wichtiges Symptom zu gelten. Erythropoese, Granulopoese und Thrombopoese k4nnen unterschiedlich betroffen sein. Die normochrome An4mie ist mittelschwer (8 bis 12 g% Hb) und überwiegend durch die Knochenmarkinfiltration bedingt. Eine Thrombocytopenie wird in m43igem Ausma3 (40000 bis 90000/mm³) fast in jedem Fall beobachtet. Sie wird 4berwiegend durch eine Verteilungsst4rung und Pl4ttchendestruktion in der vergr43erten Milz als Ausdruck eines Hyperspleniesyndroms erkl4rt, denn nach Splenektomie normalisiert sich die Pl4ttchenzahl h4ufig 4ber l4ngere Zeit. Dabei mu3 jedoch beachtet werden, da3 im Verlauf der HCL eine zunehmende Infiltration des Knochenmarks erfolgt, die meist mit einer Reduktion der Megakaryopoese einhergeht.

Die Leukocytenzahlen liegen im unteren Normbereich (3000 bis 6000/mm³). Es besteht jedoch meistens eine Granulocytopenie, da im Blut durchschnittlich 55 % (25 bis 85 %) HC vorhanden sind. Diese ausgepr4gte Granulocytopenie d4rfte der Hauptgrund f4r die Infektanf4lligkeit der Patienten sein. In der Literatur werden nur in Einzelf4llen Leukocytosen von mehr als 15000/mm³ angeföhrt (27,35).

Typischerweise ist bei der HCL die Gewinnung von Knochenmark durch Sternalpunktion schwierig. Oft wird deshalb nach mehrmaliger Punctio sicca eine Myelotomie notwendig. Der Grund d4rfte in der vermehrten Faserbildung des Knochenmarkes zu suchen sein. Die Markanteile bestehen zu 50-80 % aus HC bei entsprechend verminderter Myelopoese. Das Fettmark ist durch einen gesteigerten Zellgehalt der Markr4ume weitgehend verdr4ngt. Marksinus und Knochen sind unver4ndert. Die Punktionszylinder der Leber zeigen bei regelm43igem L4ppchenaufbau eine dichte Ansammlung von HC in den Sinus. Die Periportalfelder sind unterschiedlich stark infiltriert. In der vergr43erten Milz, die gew4hnlich 1000 bis 3000 g wiegt, ist bei einer dichten, diffusen Infiltration mit HC eine ann4hernd normale Architektur der roten Pulpa (Sinus, Chordastr4nge) erhalten, w4hrend Malpighische K4rperchen regelm43ig fehlen.

Wie in der Milz sind auch in den befallenen Lymphknoten die Follikel-

strukturen zerstört und das erhaltene Trabekelwerk dicht von HC durchsetzt.

In morphologischer Hinsicht lassen sich die 10 bis 18μ großen Zellen bereits in den nach PAPPENHEIM gefärbten Blut- und Knochenmarksausstrichen auf Grund ihrer feinen, haarähnlichen Zytoplasmaausläufer erkennen. Besonders gut sind die Zytoplasmaausläufer an der ungefärbten Zelle mit der Phasenkontrastoptik sichtbar, sie lassen sich aber auch in der Regel im gefärbten Blutaussstrich deutlich erkennen.

Die HC haben ein blaßbasophiles Zytoplasma sowie einen exzentrisch gelegenen, mäßiggradig heterochromatisierten Kern, welcher im wesentlichen lymphatischen Zellkernen gleicht. Nukleolen wurden in etwa der Hälfte der Fälle gesehen.

Die langen, pseudopodienartigen Fortsätze undulieren gering, solange die Zelle vital ist. In Deckglaspräparaten konnte MENDE und Ma. (24) 12 Tage, TRUBOWITZ und Ma. (33) sogar 20 Tage lebensfähige HC beobachten. Die HC wanderten nach Art von Lymphocyten in Handspiegelform, indem der führende Zelleib mit dem Kern ein Bündel langausgezogener Zytoplasmafortsätze hinter sich herzieht. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist mit etwa 1μ /min wesentlich langsamer als die von Lymphocyten (7 bis 10μ /min) (24).

Die charakteristischen Zytoplasmafortsätze sind auch mit dem Elektronenmikroskop (7,22,25,29) und dem Scan-Oberflächen-Elektronenmikroskop (6,33) untersucht worden.

Übereinstimmend sind Lysosomen bzw. Phagolysosomen im Zytoplasma kaum vorhanden (7,29). Für eine große Austauschaktivität zwischen Zelle und Umgebung, wie sie bei der Oberflächenstruktur zu vermuten wäre, sprechen lediglich die von HAAK und Ma. (17) nachgewiesenen Pinozytose-Vesikel.

CATOVSKY und Ma. (7) und KATAYAMA und Ma. (22) beschreiben Ribosomen-Lamellen-Komplexe im Zytoplasma von HC. Sie sollen von ähnlicher diagnostischer Bedeutung wie Auerstäbchen bei der akuten myeloischen Leukämie sein.

Stets sind Zentriole vorhanden, die durch zahlreiche Satelliten und mächtige Kondensationszentren gekennzeichnet sind. Mitochondrien mit deutlichen Cristae liegen gruppenweise im Zytoplasma. Häufig kommen "multivesicular bodies" vor, ebenso große Vakuolen mit heteromorphem

Inhalt.

Der relativ große Kern zeigt oft eine deutliche Impression und ist von einer gleichmäßigen perinukleären Zisterne umgeben, die vereinzelt Kernporen aufweist (26).

Zytochemisch gebührt LI, YAM und LAM (35) das Verdienst, mit der Entdeckung einer spezifischen, tartratresistenten sauren Phosphatase ein Marker-Isoenzym der HC gefunden zu haben, das in seiner diagnostischen Wertigkeit dem alkalischen Phosphatase-Defekt in Leukocyten bei chronisch-myeloischer Leukämie vergleichbar ist. Die saure Phosphatase fällt in 70 % der HC, aber auch in Retikulumzellen, Plasmazellen, Granulocyten und stimulierten Lymphocyten positiv aus. Während L (+)-Tartrat die Aktivität in letzteren Zellen zu inhibieren vermag, zeigt die saure Phosphatase der HC ein resistentes Verhalten. Bei der elektrophoretischen Auftrennung von HC-Aufschlüssen im Polyacrylamidgel erhält man eine zusätzliche fünfte Isoenzymbande der sauren Phosphatase, die diesem tartratresistenten Anteil entspricht. Die relative Menge des fünften Isoenzyms ist der Zahl der HC im Blut bei standardisiertem Ansatz direkt proportional. Auch photometrisch läßt sich die saure Phosphatase-Aktivität und deren tartratresistenter Anteil quantitativ aus Präparationen von Zellanreicherungen bestimmen (37).

Charakteristisch ist weiterhin eine deutliche Alpha-Naphthylazetat-Esterase-Aktivität, während die Naphthol-AS-Azetat-Esterase-Aktivität wenig ausgeprägt ist. Sie wird durch NaF kaum gehemmt. Aktivität von Naphthol-AS-D-Chloroazetat-Esterase, Peroxydase und Sudanschwarz B ist in den HC nicht zu erhalten. Ebenso fällt der Nachweis von alkalischer Phosphatase und Naphthylamidase negativ aus. Beta-Glukuronidase-Aktivität ist sehr schwach nachweisbar. Von den oxydativen Enzymen findet sich eine deutliche Succinodehydrogenase-, Malatdehydrogenase-, Isozitatdehydrogenase-sowie NADH_2 -Tetrazoliumoxidoreduktase-Aktivität. Die G6PDH-Aktivität ist etwas höher als in Lymphocyten. Die PAS-Reaktion fällt manchmal schwach aus, wobei das Reaktionsprodukt nicht in umschriebenen, scharf begrenzten Granula, sondern eher als Plaques lokalisiert ist. Lysozym läßt sich immunhistologisch nicht nachweisen (5).

Die Adhäsivität der HC in Deckgläsern ist, verglichen mit der der Monocyten und Neutrophilen, gering, jedoch deutlich feststellbar.

Sie ist jedenfalls größer als die der Lymphocyten. Bei Hautfensteruntersuchungen ist eine Umwandlung von HC in Makrophagen nicht festzustellen, desgleichen nicht in vitro (29).

Immunologische Untersuchungen wurden vor allem im Hinblick auf die Ig-Determinanten durchgeführt (5). Nach Inkubation mit einem fluoreszeierenden Schwere-Ketten-Antiserum (Anti-GAM-Serum) war eine leuchtende, typische Membranfluoreszenz an fast allen HC zu beobachten, ebenso nach Inkubation mit fluoreszeierendem Anti-Ig G-Serum. Mit fluoreszeierendem Anti-IgA- und Anti-IgM-Serum reagierten nur wenige Zellen schwach positiv.

Blockierende Tests mit Vorinkubation der Zellen durch ungekoppelte monospezifische Anti-Ig-Seren und nachfolgender Färbung mit fluoreszeierendem Anti-IgG- und Anti-GAM-Serum zeigten eine deutliche Abschwächung der Membranfluoreszenz, nicht jedoch nach Vorinkubation mit Antiseren anderer Spezifität. Die Lysozymbestimmung im Serum und Harn ergab niedrige bzw nicht meßbare Werte (5).

Hinsichtlich der funktionellen immunologischen Differenzierungsmöglichkeiten hat sich zur Erkennung der B-Lymphocyten der Nachweis von Immunglobulinen an der Zelloberfläche als nützliches Kriterium erwiesen. Bei Normalpersonen werden etwa 10 bis 15 % der peripheren Lymphocyten als IgM-positiv gefunden, etwas weniger Lymphocyten sind IgG-positiv und sehr deutlich weniger IgA-positiv. Die T-Lymphocyten können mit der Spontanrosettenbildung und der PHA-Stimulation erfaßt werden. Als Ausdruck einer monoklonalen Zellproliferation werden bei Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie oder Morbus WALDENSTRÖM überwiegend Immunglobulindeterminanten vom Ig M-Kappa-Typ gefunden. Immunglobuline gleicher Spezifität zeigen meist auch Lymphosarkomzellen.

Die Spezifität des immunologischen Ig-Determinanten-Nachweises an den HC ist umstritten. Die zottige Oberflächenstruktur dieser Zellen könnte durch eine unspezifische Adsorption von Immunglobulinen oder Anti-Immunglobulinseren positive Ergebnisse vortäuschen. Andere Autoren finden jedoch analog zu den Verhältnissen bei lymphoproliferativen Erkrankungen mono- und polyklonale Ig-Determinanten (8). Auch die blockierenden Versuche von BRAUNSTEINER und Ma. sprechen für eine Spezifität des Ig-Determinantennachweises und damit für die B-Zell-natur der HC. Ähnliche Überlegungen gelten für die Spezifität

des positiven Nachweises von Immunokomplex-Komplement-Rezeptoren als weiterer B-Zellmarker (8).

Auffallend ist die äußerst geringe Zahl von Mitosen von HC. Bei einer Invitroinkubation mit ^3H -Thymidin markieren sich autoradiographisch weniger als 1 % der HC, die DNS-Syntheserate ist also wie bei "ruhenden", sog. G_0 -Zellen fast Null. Stimuliert man in vitro mit PHA, so ist die Blasten-Transformationsrate nach 72 h umso geringer, je größer der Anteil von HC im Ansatz war (8,17,24,29,33,34). Anders als bei der chronisch lymphatischen Leukämie bleibt auch nach 7tägiger Inkubation mit PHA die Transformation gering (8,24).

KASUISTIK

Fall 1

W.N., männlich, 49 J.

Anamnestisch im Herbst 1973 Coronarinfarkt im Bereich der Vorderwand. Anlässlich einer stationären Behandlung war im Mai 1974 neben einem derben Milztumor eine deutliche Lymphocytose von 90 % im Differentialblutbild bei geringer Leukocytose aufgefallen, was bei einer Untersuchung im Herbst 1973 noch nicht vorhanden gewesen war. Auf Grund der Untersuchung des Sternalmarkausstrichs und des peripheren Blutbildes wurde die Diagnose einer HCL gestellt. Zur weiteren Behandlung wurde der Patient im Juli 1974 der onkologischen Ambulanz der Frankfurter Universitätsklinik zugewiesen. Der damalige Untersuchungsbe- fund ergab eine Splenomegalie (6 cm) mit derber Konsistenz, Leber ebenfalls vergrößert palpabel (3 cm), keine Lymphknotenschwellungen. Als Nebebefund psoriatische Herde am ganzen Körper. Übriger Befund unauffällig.

Laboratoriumsbefunde: BSG 5/11 mm n.W.

Hb: 13,9 g %, Erythrocytenzahl: 4,29 Mill./cmm, Leukocytenzahl: 10200/cmm, Thrombocytenzahl: 57000/cmm. Differentialblutbild: 3 % Stabkernige, 7 % Segmentkernige, 1 % Eosinophile, 10 % Lymphocyten sowie 79 % Haarzellen.

Serumeiweißgehalt 7,3 g/100ml mit unauffälliger elektrophoretischer Verteilung der einzelnen Serumeiweißfraktionen. Quickwert: 32 % (unter Dicumarol). Übrige Laboratoriumswerte im Normbereich.

Sternalmarkuntersuchung: HCL mit dichter Infiltration des Markes. Therapeutisch wurde nach Ersatz des Dicumarol durch Colfarit und Normalisierung des Quickwertes die Splenektomie am 3.9.1974 durchgeführt. Die 1330 g schwere Milz zeigte eine gleichförmige Schnittfläche, wobei feinere Strukturen nicht zu erkennen waren. Die histologische Begutachtung durch das Frankfurter Zentrum für Pathologie der Universitätsklinik ergab eine diffuse lymphoidzellige Infiltration der Milz wie bei lymphatischer Leukämie. Dieser Befund ist mit einer HCL gut in Einklang zu bringen, ohne daß im Schnittpräparat die Abgrenzung dieser Leukämiesonderform gelungen wäre.

Bei weiteren ambulanten Kontrolluntersuchungen wurde ein Ansteigen der Leukocytenzahl (23200/cmm) und der Thrombocytenzahl (112000/cmm)

festgestellt. Letzte Kontrolle vom 31.10.1975 - Hämoglobin: 12,8 g %, Leukocytenzahl: 66200/cmm, Thrombocytenzahl: 112000/cmm. BSG: 12/29 mm n.W., übrige Laborwerte im Normbereich. Subjektives Befinden wechselnd. Wegen einer flächenhaften, ca 5 x 5 cm großen subkutanen Infiltration im Nacken, wurde im Februar 1975 eine palliative Radiatio mit einer Gesamtherddosis von 4000 rd. durchgeführt. Nach Abschluß der Therapie war ein deutlicher Rückgang der Infiltration zu verzeichnen, sie war jedoch noch zu tasten.

Wegen Exacerbation der Psoriasis vulgaris wurde seit April 1975 eine Behandlung mit Methotrexat eingeleitet.

Inzwischen kam es zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes und Auftreten einer cerebralen Symptomatik mit Gesichtsfeldausfällen, die wiederholte stationäre Behandlungen notwendig machte. Es wurde eine Bestrahlung des ZNS (PINKEL-Schema) durchgeführt, wodurch jedoch keine Rückbildung der Symptome erzielt werden konnte.

Fall 2

W.G., männlich, 52 Jahre.

Anamnestisch seit Herbst 1974 Belastungsdyspnoe; Überweisung mit dem Verdacht auf Leukämie. Seit 26.11.1974 ambulante Behandlung in der Haematologischen Ambulanz der Frankfurter Universitätsklinik.

Befund: Panmyelopathie, Punctio sicca des Sternalmarkes.

Stationäre Aufnahme am 4.2.1975. Blässe, Belastungsdyspnoe. Leber und Milz mäßig vergrößert und konsistenzvermehrt. Axillär vereinzelte bis bohngroße Lymphknoten.

Laboratoriumsbefunde: BSG mäßig beschleunigt, Hb: 8,4 g %, Erythrocytenzahl: 3,1 Mill./cmm, Leukocytenzahl: 5300/cmm. Im Differentialblutbild waren die Granulocyten und Monocyten unauffällig. Die morphologischen Veränderungen der Lymphocyten, die mit durchschnittlich 75 % vorherrschten, sprachen für eine HCL. Thrombocytenzahl: 56000/cmm. Serumelektrophorese bei einem Gesamtproteingehalt von 8,4 g % in allen Fraktionen normal. Immunglobuline G mit 2026 mg % leicht erhöht. IgA normal, IgM auf 36 mg % erniedrigt. Kein Hinweis auf Paraprotein.

AHG-Test und Immunfluoreszenz auf Erythematodes visceralis neg.

Alkalische Leukocytenphosphatase mit einem Index von 176 (normal 10-100) erhöht. Übrige Laboratoriumswerte normal. Histologie des Beckenkammes (Myelotomie) - Frankfurter Zentrum für Pathologie der Universitätsklinik: hyperplastisches Knochenmark mit Vermehrung der Retikulumzellen, auch unreifer Vorstufen. In Verbindung mit der Histologie einer Leberbiopsie, bei der dicht rundzellige Infiltrate sowohl in den Periportalfeldern als auch in der Lichtung der Sinusoide vorhanden waren, handelt es sich um eine akute Leukose.

Die Lymphographie ergab keinen pathologischen Befund. Auf Grund der charakteristischen morphologischen Veränderungen der Lymphocyten handelt es sich hierbei um eine HCL.

Therapeutisch wurden gewaschene Erythrocyten transfundiert und am 27.2.1975 eine Splenektomie durchgeführt.

Entlassung am 22.3.1975. Seither ständige ambulante Überwachung. Dabei Ansteigen des Hb-Gehaltes und der Thrombocyten bei subjektivem Wohlbefinden. Letzte Kontrolle vom 4.11.1975: Leukocytenzahl: 9500/cmm Erythrocytenzahl: 4,73 Millionen, Hbgehalt: 12,9 g %, HK 39,4 %, Hb_E 27,2 µg, Thrombocytenzahl 284000/cmm

MATERIAL UND METHODIK

Als Material wird Venenblut dreier Normalpersonen und das der Kranken G. und N. verwendet, ferner die Milz des Kranken N. und die zweier Patienten mit Morbus Werlhof nach Splenektomie.

Blut

Venöses Blut wird in einer mit Vetren benetzten heparinisierten Spritze aufgezogen. Ein Teil Blut wird mit zwei Teilen physiologische Kochsalzlösung und drei Teilen Gelatinelösung in einer Spritze gemischt und 60 Minuten bei 37° C sedimentieren lassen.

Milz

Die Operationspräparate werden unmittelbar nach der Splenektomie verwendet. Sie werden zuerst mit einer Schere und dann mittels eines kleinen Drahtsiebchens oder zweier größerer Injektionsnadeln vorsichtig soweit wie möglich zerkleinert. Nach Grobfiltration über Zellstoff wird die Zellsuspension in einer Spritze durch eine Nadel mit der Stärke 12 auf- und abgezogen, bis keine größeren Partikel makroskopisch mehr nachweisbar sind. Kleinere Zellverbände und Verunreinigungen werden mit einer mit Watte gefüllten Pasteurpipette entfernt und die Zellsuspension anschließend ohne Sedimentation gewaschen.

Trennung im elektrischen Feld mit Hilfe der kontinuierlichen, präparativen, trägerfreien Zellelektrophorese nach HANNIG:

Es wurde als Gerät das Modell VaP 5 der Firma Bender und Hobein, München, mit einer vom Elektrodenraum durch Ionenaustauschermembranen getrennten 100 mm breiten, 510 mm hohen und 0,7 mm tiefen und mit Albuminlösung beschichteten Trennkammer (Abb. 1) verwendet. Der Pufferstrom erfolgt kontinuierlich von oben nach unten mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 400 ml pro Stunde. Die Zellsuspension, die während der Trennung durch Rotation ständig gemischt wird, gelangt durch einen an der Kammervorderwand oben rechts angebrachten Einführungsstutzen kontinuierlich (3×10^8 kernhaltige Zellen pro Stunde) in die Kammer, wobei die Zellen 5 min lang hier verweilen. Die Trennung erfolgt bei einer Spannung von 1000 V, einer Stromstärke von 120 mA und einer Puffertemperatur von 6° C. An der am unteren Kammerende befindlichen Trennleiste, von der 92 Schläuche zu gekühlten, mit 0,5 ml Puckscher Lösung mit 10 %igen BSA beschickten Präparategläsern führen, werden die Zellen fraktioniert aufgefangen. Die Anzahl der gesamten und der kernhaltigen Zellen wird mit einem Coulter FN-Gerät bestimmt. Die Fraktion, die die meisten Erythrocyten enthält, wird mit 0 bezeichnet. Von Null ausgehend werden die Fraktionen mit Zellen höherer elektrophoretischer Ablenkung als die Erythrocyten mit positiven und solche mit geringerer Ablenkung mit negativen Nummern versehen. Um die Ergebnisse verschiedener Zelltrennungen untereinander vergleichbar zu machen, werden die Zellzahlen pro ml der einzelnen Fraktionen in Prozent der Gesamtzahl der Zellen aller Fraktionen angegeben.

Cytocentrifugation:

Das benutzte Modell ist eine von ZEILLER modifizierte Swingoutzentrifuge, die auf dem Prinzip von LEIF und VINOGRAD (39) beruht. Die Fraktionen werden zunächst gezählt. Auf Protokoll wird eine Verdünnung ausgerechnet, mit der jeweils das entsprechende Volumen verdünnt wird. Die zu untersuchende Zellsuspension wird mit einer Verdünnung - aus HANKS + 2 % BSA 1:2 bestehend - gemischt. Eine maximale Konzentration von $2,5 \times 10^5$ Zellen/ml soll zur Vermeidung von Verklumpung und Aggregationen der Zellen auf dem Objektträger nicht überschritten werden.

Zur Befeuchtung des Filterpapiers werden 500 μ l HANKS in die Cytocentrifuge gegeben. Abschließend füllt man 1 ml des verdünnten Zellmaterials in die Cytozentrifuge.

Das Gesamtvolumen darf 1 ml je Probe nicht überschreiten.

Funktionsteste für Lymphocyten:

Immunfluoreszenz:

2×10^6 kernhaltige Zellen werden in 0,2 - 0,4 ml HANKS-Lösung zusammen mit 0,1 ml Fluoresceinithioisocyanat-markiertem Anti-Human-Gamma-Globulin von der Ziege pipettiert und 30 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Als Kontrolle dient ein Ansatz mit gewaschenen menschlichen Erythrocyten. Nach dreimaliger Waschung mit HANKS-Lösung (180 g, 10 min) werden 0,1 ml Fluorescein-markiertes Anti-Ziegen-Gamma-Globulin vom Kaninchen zugegeben, nach weiteren 30 Minuten erfolgt erneute Waschung mit HANKS-Lösung. Das Sediment wird mit Ölimmersion unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet.

Zur Optimierung der Antigen-Antikörper-Reaktion muß der Gehalt an Antikörpern in den einzelnen Chargen der Fluorescein-markierten Gammaglobuline bestimmt werden.

Das erfolgt durch geometrische Verdünnungsreihen im einfachen Ouchterlony-Test. Anti-Human-Gamma-Globulin von der Ziege wird gegen eine 1:2 Verdünnung von AB-Serum und Anti-Ziegen-Gamma-Globulin vom Kaninchen wird gegen eine 1:2 Verdünnung des Ziegenglobulins getestet.

Lymphocytentransformationstest

Gewinnung der Lymphocyten:

Zu 40 ml Blut werden 4 ml Vetren gegeben.

Zu 50 ml Aqua dest. werden 14,7 ml Uromiro gegeben. Von beiden Gemischen werden jeweils 5 ml in 10 ml Zentrifugenröhrchen gefüllt und 30 min bei 2500 U/min in der Christ-Junior-Zentrifuge zentrifugiert. Es entstehen drei Schichten. Die trübe Mittelschicht wird geerntet und in TC-199-Medium (100 ml TC-199 vorher mit 1 ml Antibioticum versetzen) aufgeschlemmt.

Danach läßt man die Ernte über eine mit Leukopack locker gestopfte Glassäule von 8 cm Länge laufen und spült mit 20 ml Medium nach. (Die Säulen werden vorher sterilisiert und dann erst mit Leukopack gestopft).

Die Säulenernte wird zweimal in TC-199 gewaschen.

Den letzten Bodensatz nehme man in 4 ml Medium auf und bestimme aus dem Cytozentrifugat den Anteil der Lymphocyten.

Ansetzen des Kulturmediums:

0,8 ml TC-199 mit Antibioticum + 0,2 ml AB-Serum + 0,01 ml L-Glutamine 200 mmol. Auf 1 ml dieses Mediums kommen 10^6 Lymphocyten. 0,5 ml Kultur von Pat. A wird mit 4000 r bestrahlt und mit 0,5 ml Kultur von Pat. B versetzt und in ein Kulturfläschchen gegeben. Die Fläschchen werden in einem Brutschrank bei 37° C inkubiert. Der Brutschrank sollte mit CO₂ - Luft auf einen pH von 7,2 eingestellt werden.

Nach 4 Tagen versetze man sie mit 0,1 ml ³H-Thymidin und stelle sie für weitere 24 Std. in den Brutschrank ein. Dosis: 1 μ Ci/Kultur.

Scintillationszählung:

Nach der Markierung mit ³H-Thymidin wird der Inhalt aus den Kulturgefäßen in Zentrifugengläser umgefüllt und einmal mit gleichen Volumina HANKS-Lösung nachgespült. Das Spülwasser wird ebenfalls in die Zentrifugenröhrchen gegeben. Man zentrifugiere dann bei 2500 U/min in der Christ-Junior K 1 Zentrifuge.

Anschließend werden die Zellen dreimal mit HANKS-Lösung gewaschen. (180 g, 10 min). Der mit 1,5 ml Soluene und 0,5 ml H₂O₂ versetzte Bodensatz wird 15 Minuten im Wasserbad bei 37°C inkubiert, anschließend

4 ml Insta-Gel zugegeben und das gesamte Volumen zur Messung in Packard-Fläschchen überführt und nach 2-3 Stunden Stehen in der Dunkelheit (zum Ausschluß von Photolumineszenzen) mit der Messung begonnen.

ERGEBNISSE

Morphologische Einteilung der lymphoiden Zellen bei HCL

Die lymphoiden Zellen bei HCL lassen sich nach morphologischen Kriterien (Färbung nach PAPPENHEIM) in 4 Subpopulationen unterteilen:

Typ 0: Er entspricht dem kleinen Lymphocyten des Blutausriches beim Gesunden und besitzt keine Plasmafortsätze.

Typ I: Die Zelle (Abb. 2) hat etwa einen Durchmesser von $10-14\mu$. Sie besitzt einen ovalen bis runden Kern, der manchmal auch gebuchtet oder selten gelappt ist. Die Chromatinstruktur ist locker und retikulär. Man sieht häufig große, kernfarbene Nukleolen. Der breite Cytoplasmasaum besitzt eine blaßblaue Farbe und zeichnet sich durch dünne Fortsätze oder einen sägezahnartigen Zellsaum aus.

Typ II: Die Zellen (Abb. 3) sind kleiner als der Typ I. Ihre Größe schwankt zwischen 8 und 12μ . Sie haben einen kleinen runden Kern. Die Chromatinstruktur ist dicht und grobschollig. Man beobachtet keine Nukleolen. Der Plasmasaum ist breit und basophil bis tiefblau. Er weist einen gezähnelten Rand oder kleine plumpe Fortsätze auf.

Typ III: Die Zellen (Abb. 4) entsprechen in ihrer Morphologie weitgehend dem Typ II, wobei die Chromatinstruktur noch dichter sein kann. Als typisches Merkmal finden sich zusätzlich lange, feine bis plumpe Ausläufer.

Verteilungsprofile der elektrophoretischen Beweglichkeit der lymphoiden Zellen von Blut und Milz.

Normale Blutlymphocyten: Abbildung 5 zeigt die Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Blutlymphocyten von zwei gesunden Versuchspersonen. Beide Profile haben im wesentlichen die gleiche Verteilung. Das Maximum der Lymphocyten findet sich in Fraktion -3. Unterstellt man, daß sich hier eine einheitliche Zellpopulation befindet, so würde sie in etwa von 0 bis -6 reichen. Eine zweite Population umfaßt die Fraktionen -5 bis -9, wobei das Maximum bei -6 bis -7 liegt. Für die Bestimmung der elektrophoretischen Beweglichkeit (EPB) der lymphoiden Zellen der Milz wurden Operationspräparate zweier Patienten mit Morbus WERLHOF verwendet. Abbildung 6 zeigt, daß auch hier beide Profile eine ähnliche Verteilung haben. Das Maximum der Lympho-

cyten findet sich in Fraktion -5. Eine Subpopulation liegt im schnellen Bereich und umfaßt die Fraktionen 0 bis -3, wobei das Maximum bei -1 bis -2 liegt.

Abbildung 7 zeigt die Trennprofile der elektrophoretischen Beweglichkeit (EPB) von Blutlymphocyten einer Normalperson, denen HC von zwei Patienten mit HCL gegenübergestellt sind. Man sieht, daß die Verteilungsprofile bei beiden Patienten mit HCL deutlich breiter sind als die der Normalperson, bei Patient N. ausgeprägter als bei Patient G. Der Kranke N. besitzt darüber hinaus noch ein in den langsamen Bereich verschobenes Profil. Die meisten seiner Lymphocyten zeichnen sich also durch eine geringere EPB aus als die Lymphocyten des Gesunden und des Kranken G. Es existieren also offenbar unter den lymphoiden Zellen der HCL mehrere Subpopulationen, die sich durch eine unterschiedliche EPB auszeichnen.

Abbildung 8 zeigt die Verteilung der drei "Hairy-Cell"-Typen bei Pat.N. entsprechend ihrer EPB. Typ II bildet zwei Maxima mit einem Maximum im schnellen und einem im langsamen Bereich. Typ I liegt mit seinem Maximum zwischen diesen beiden Gipfeln. Die niedrigste EPB besitzt Typ III.

Abbildung 9 zeigt die Verteilungsprofile des Pat. N. nach einem erneuten Schub. Im Vergleich zur Abb. 8 zeigt sich eine größere Zellzahl im schnellen Bereich. Das Maximum von Typ I liegt bei -4. Typ II bildet zwei Maxima, das erste Maximum liegt bei -3, das zweite bei -5. Die Verteilung der immunfluoreszenzpositiven Zellen zeigt ebenfalls einen doppelgipfligen Verlauf, wobei das erste Maximum bei -3, das zweite bei -5 bzw. darüber hinaus im langsamen Bereich liegt.

Bei Pat. G. in Abb. 10 findet sich grundsätzlich das gleiche Bild. Jedoch ist der Anteil der Zellen in den jeweiligen Zellklassen unterschiedlich.

Die funktionelle Zuordnung der Zellen am Beispiel der Milz von Pat. N. (Abb. 11) zeigt die Beschränkung der durch PHA stimulierbaren Zellen auf den schnellen Bereich, in dem sie auch normalerweise zu finden sind. Wahrscheinlich ist dieses Verhalten an die noch gering vorhandenen normalen T-Lymphocyten gebunden. Deutlich davon abgetrennt findet sich die Masse der immunfluoreszenzpositiven Zellen, die sich im gezeigten Fall ausschließlich im Bereich niedriger EPB finden.

LEGENDEN

- Abb. 1: Schematische Zeichnung der kontinuierlichen trägerfreien Zellelektrophoreseapparatur nach HANNIG. Der obere Teil stellt die Trennkammer dar, der dünne Pfeil den Weg des Pufferstroms. Im unteren Teil ist der Behälter mit den Sammelgefäßen abgebildet.
- Abb. 2: "Hairy-Cells" des Typ I (1/12 Öl, Färbung nach PAPPENHEIM)
- Abb. 3: "Hairy-Cells" des Typ II (1/12 Öl, Färbung nach PAPPENHEIM)
- Abb. 4: "Hairy-Cells" des Typ III (1/12 Öl, Färbung nach PAPPENHEIM)
- Abb. 5: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Lymphocyten des Blutes von 2 gesunden Probanden.
- Abb. 6: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Milzlymphocyten von 2 Kranken mit M. WERLHOF.
- Abb. 7: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Blutlymphocyten einer Normalperson und zweier Patienten mit "Hairy-Cell-Leukämie".
- Abb. 8: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der 3 "Hairy-Cell"-Typen bei Patient N.
- Abb. 9: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der 3 "Hairy-Cell"-Typen bei Patient N. nach einem erneuten Schub.
- Abb. 10: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der 3 "Hairy-Cell"-Typen bei Patient G.
- Abb. 11: Verteilung der elektrophoretischen Beweglichkeit der lymphoiden Zellen der Milz des Patienten N. Gleichzeitig sind die PHA-Reaktivität (cpm, Leerwert: $84 \text{ cpm} \pm 21$) und die immunfluoreszenzpositiven Zellen (rechte Ordinate) dargestellt.

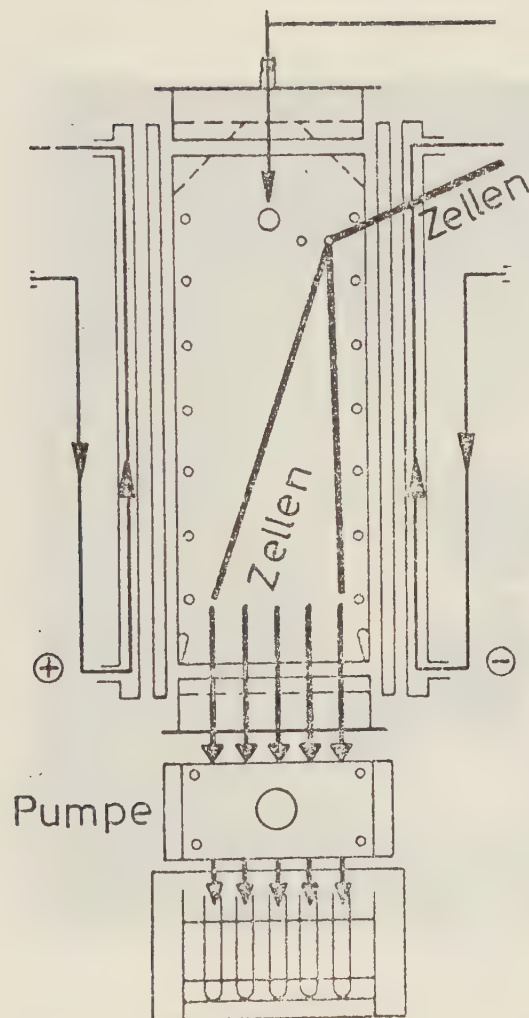


ABB:1

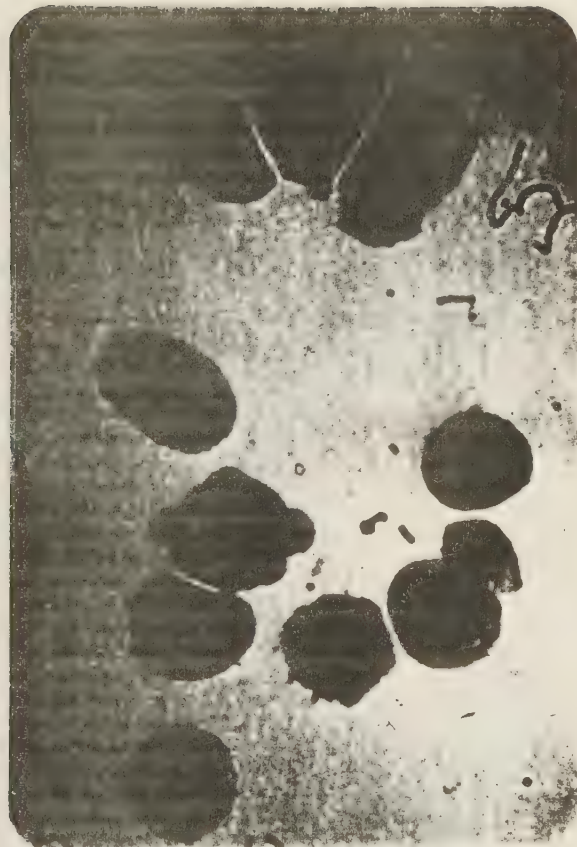


ABB:2



ABB:3



ABB:4

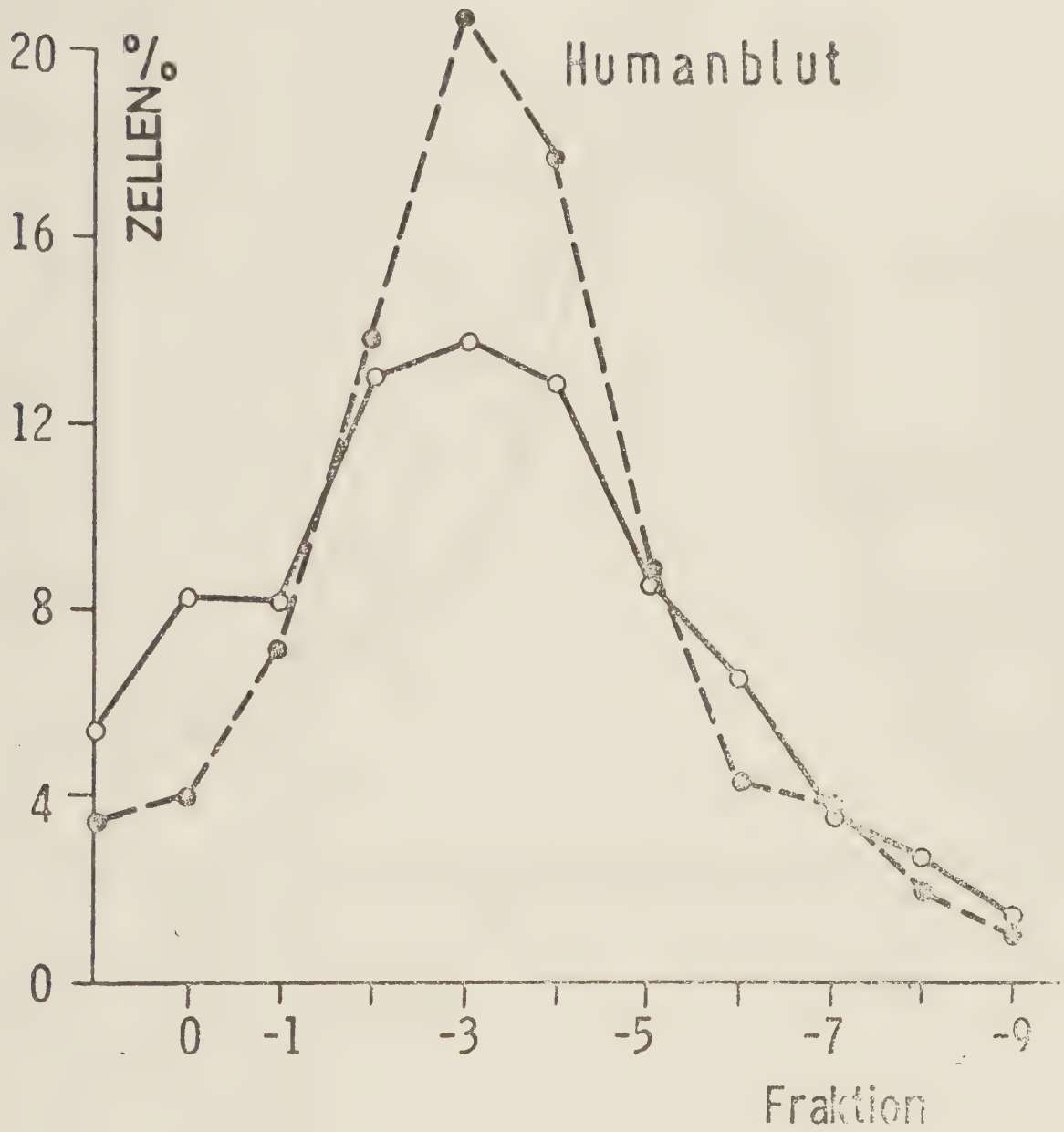


ABB:5

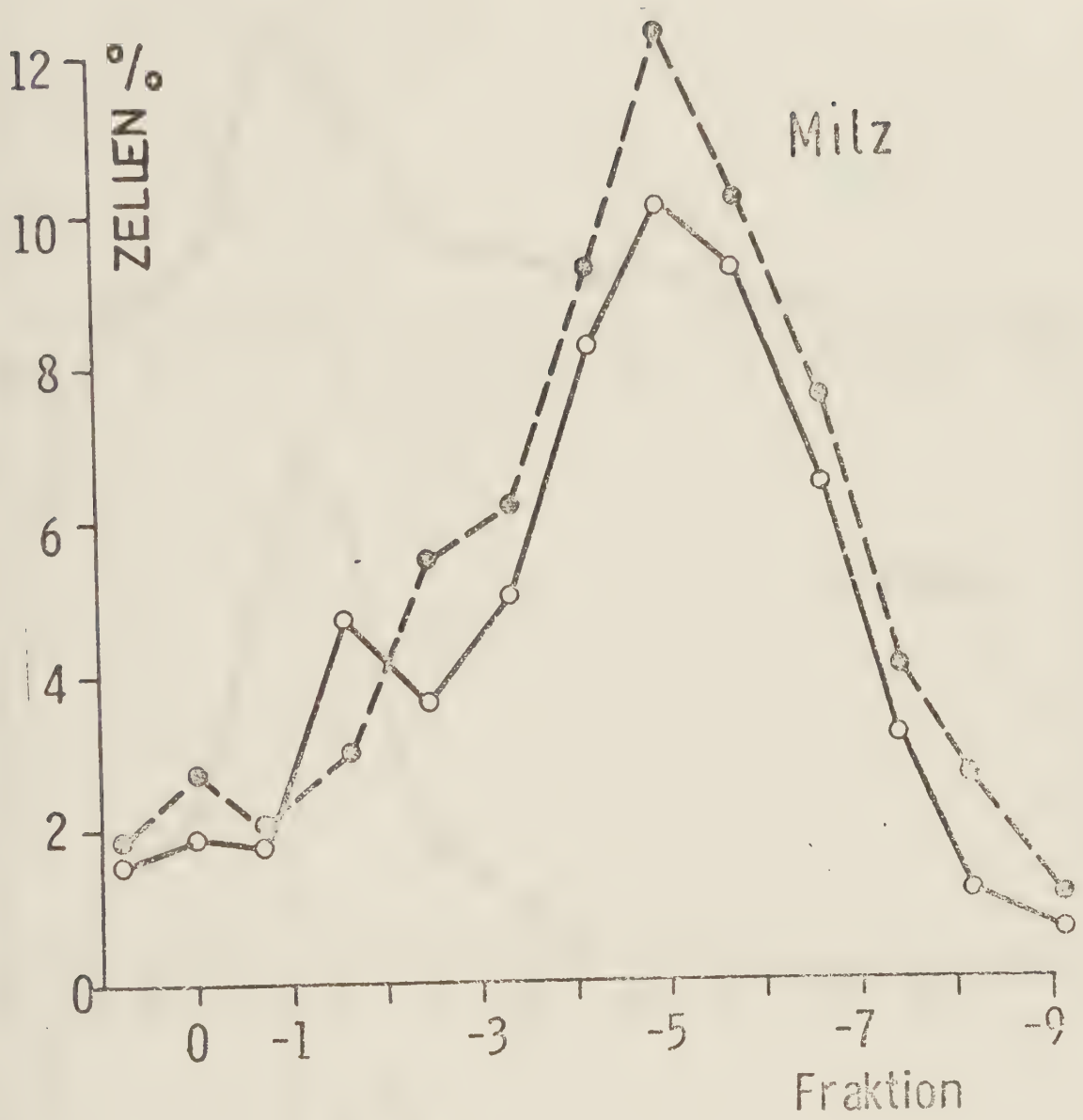
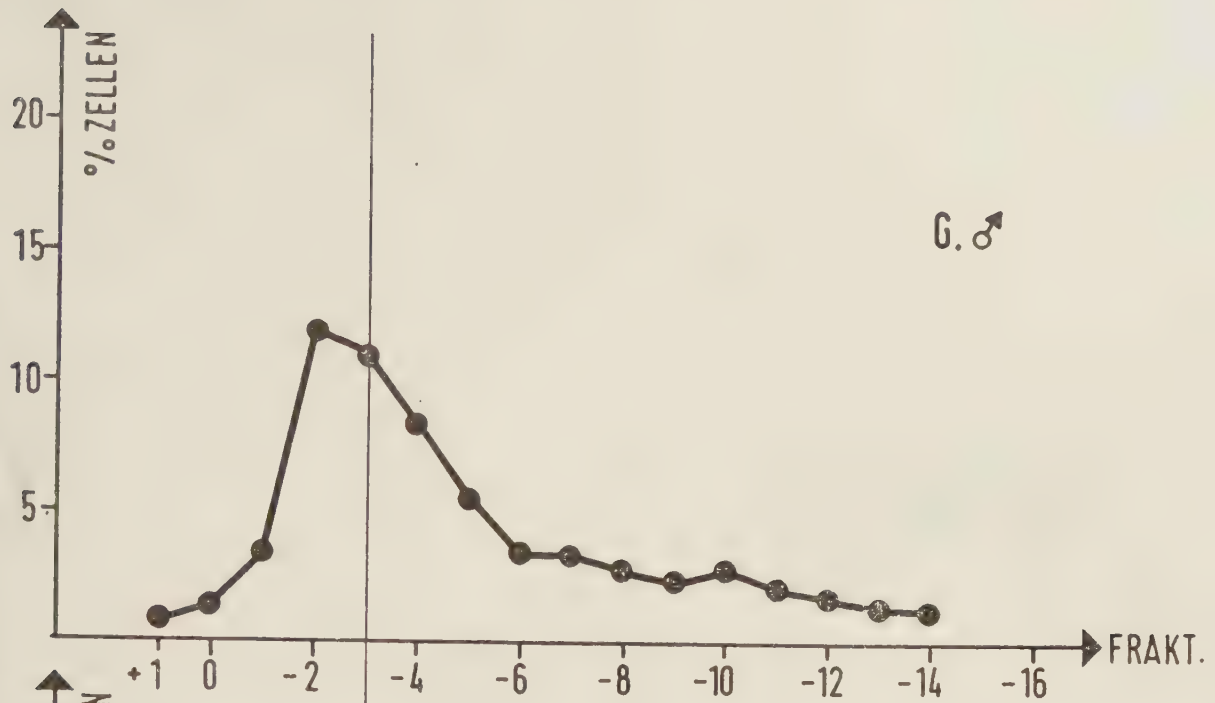


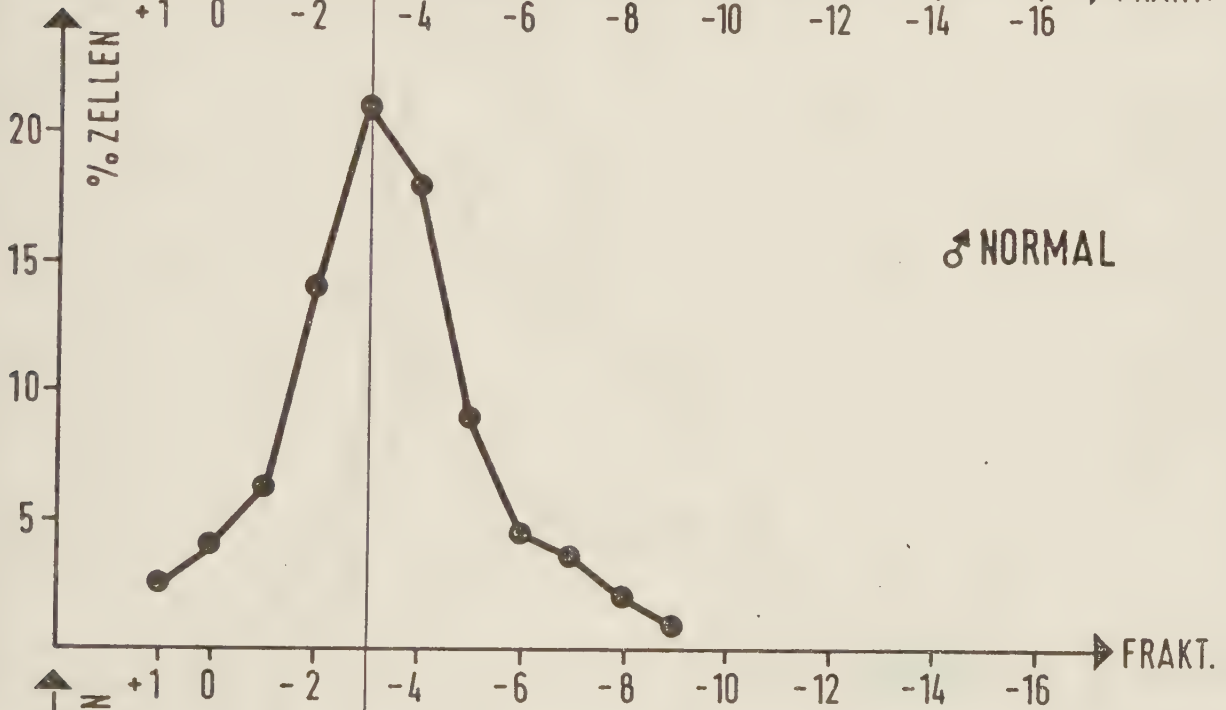
ABB: 6

TRENNPROFILE VON LYMPHOCYTEN²⁵ UND "HAIRY"-ZELLEN (BLUT)

G. ♂



♂ NORMAL



N. ♂

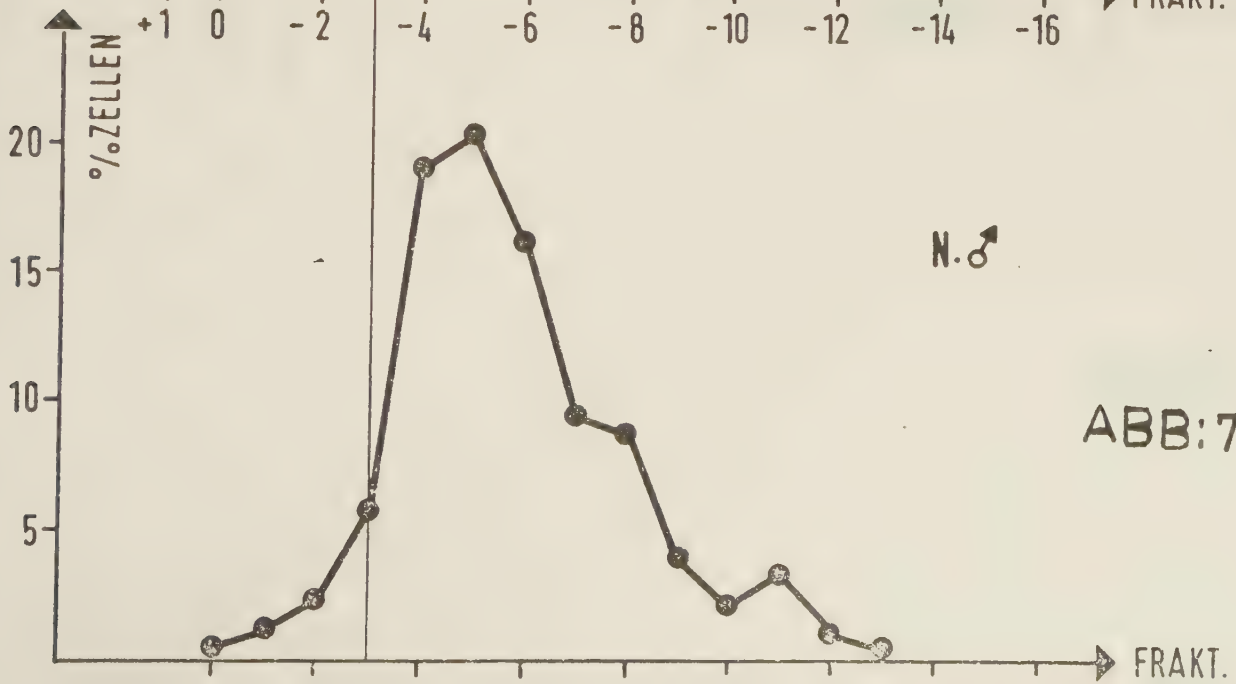


ABB:7

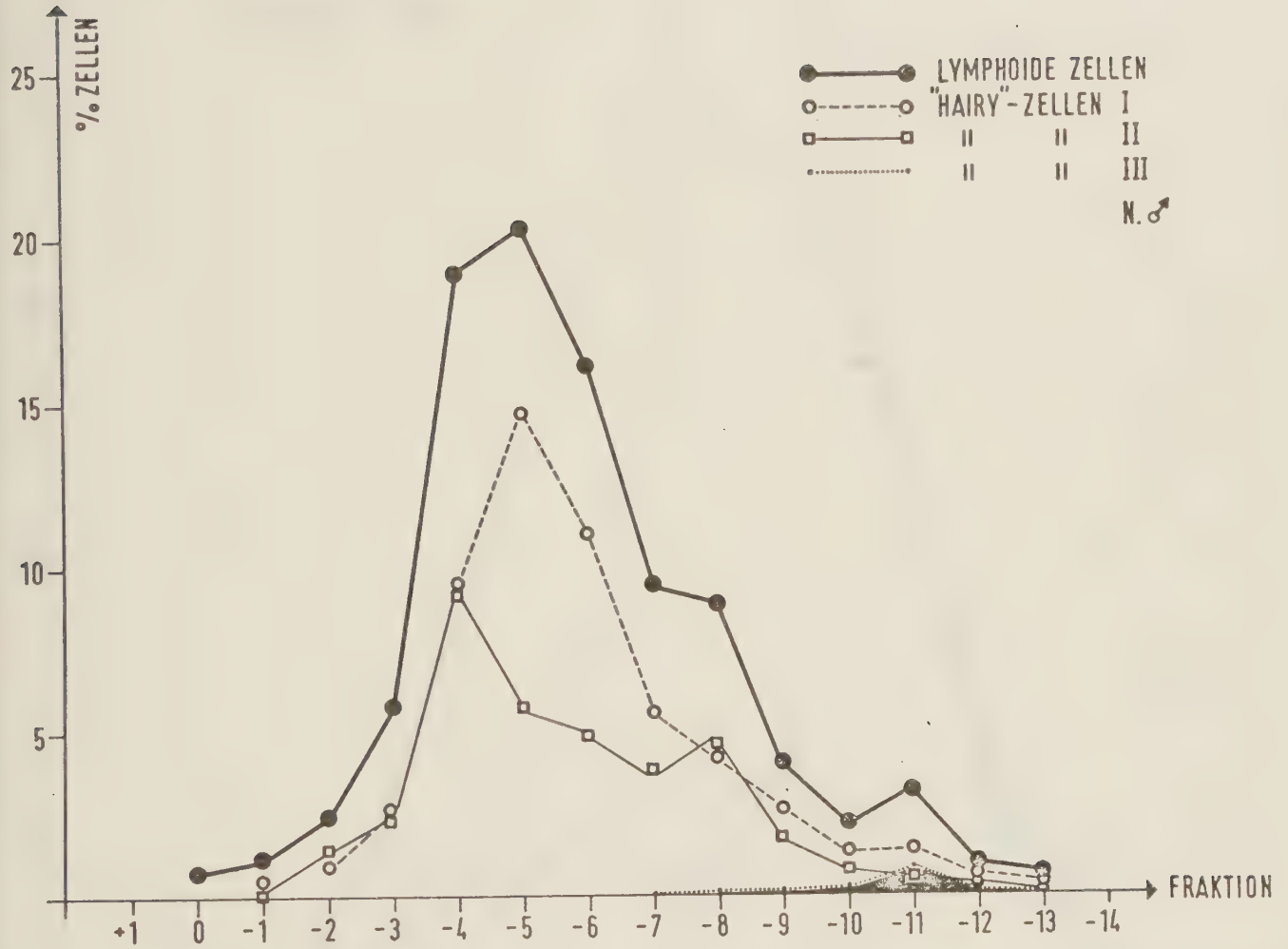


ABB: 8

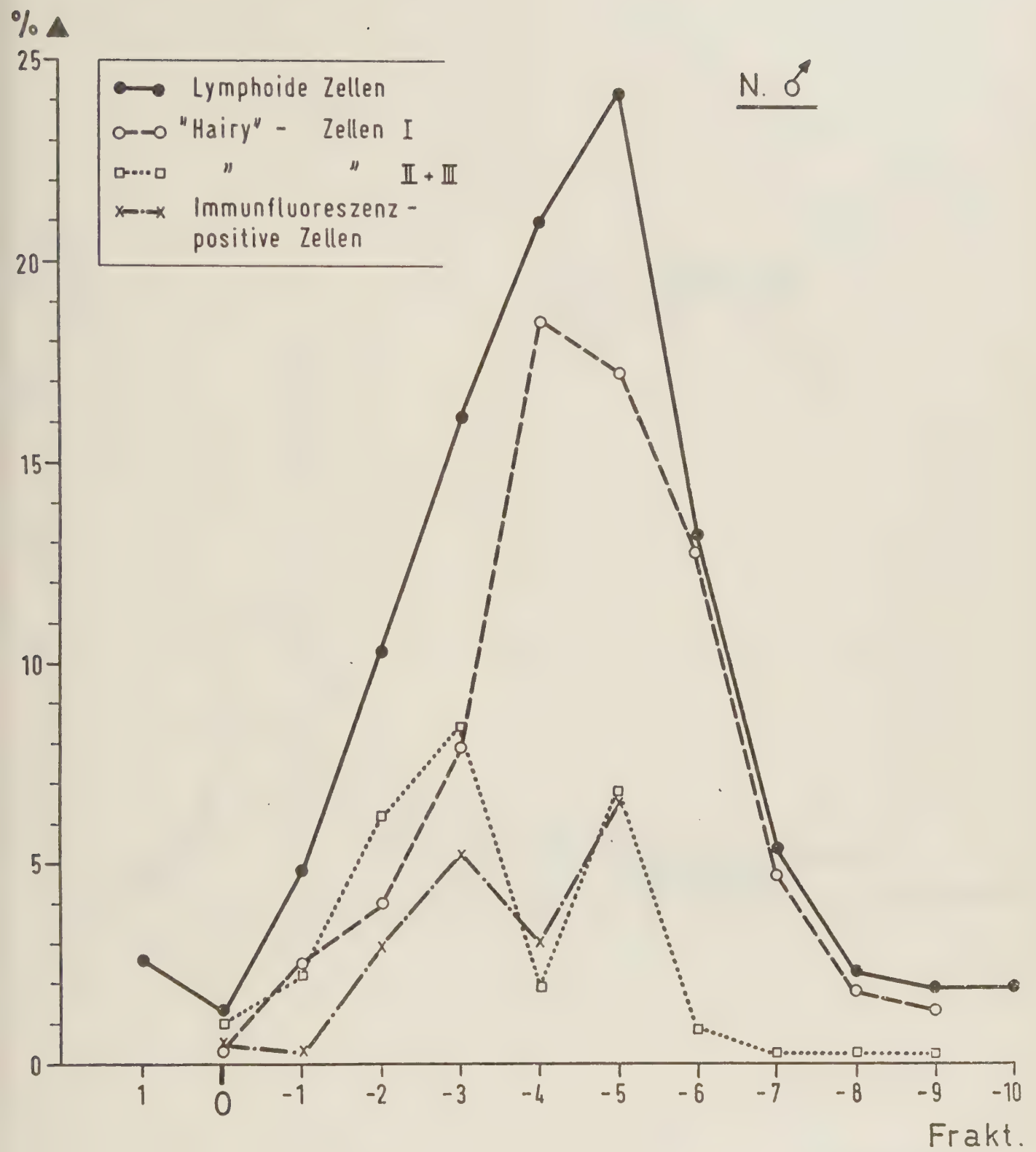


ABB:9

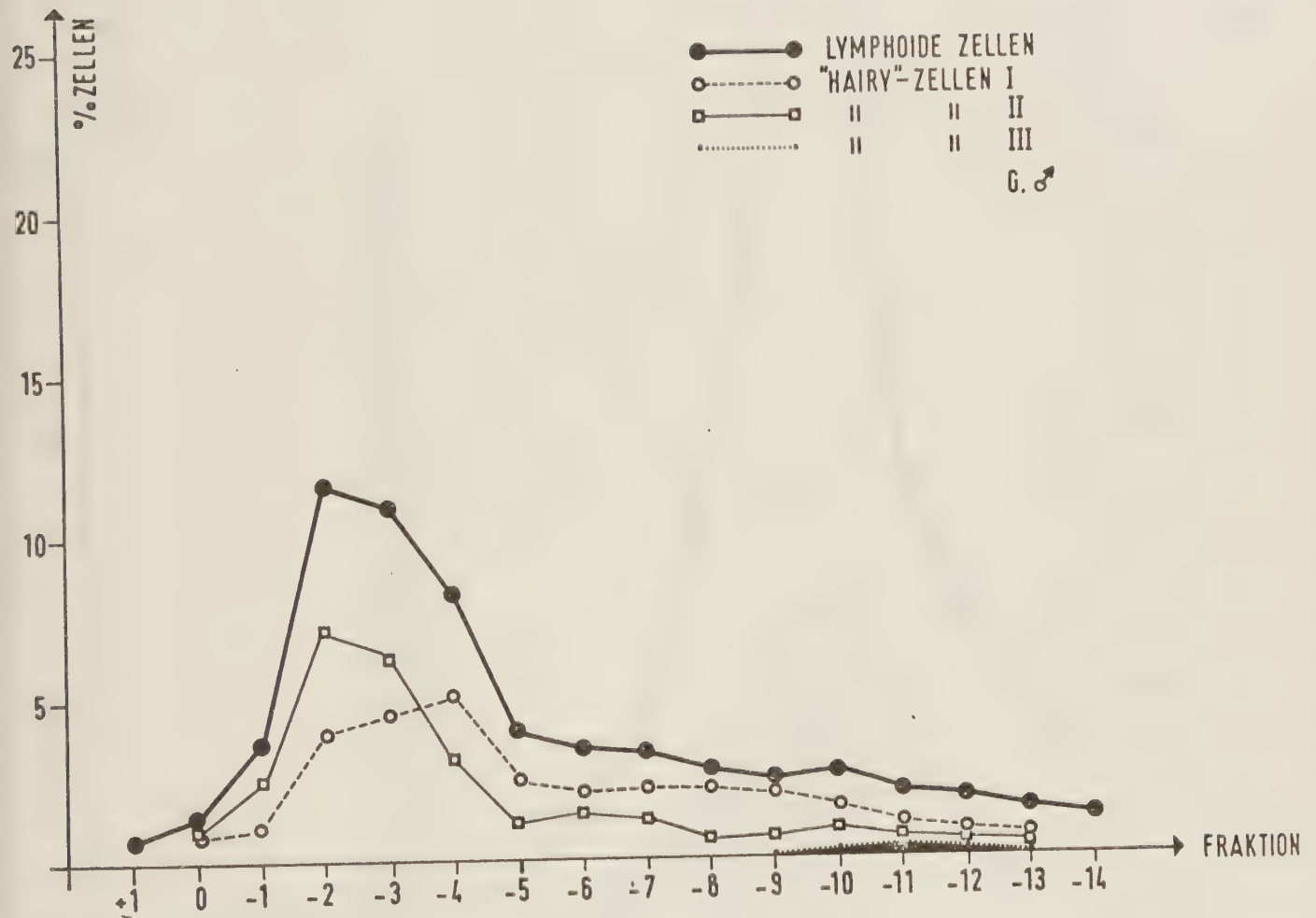
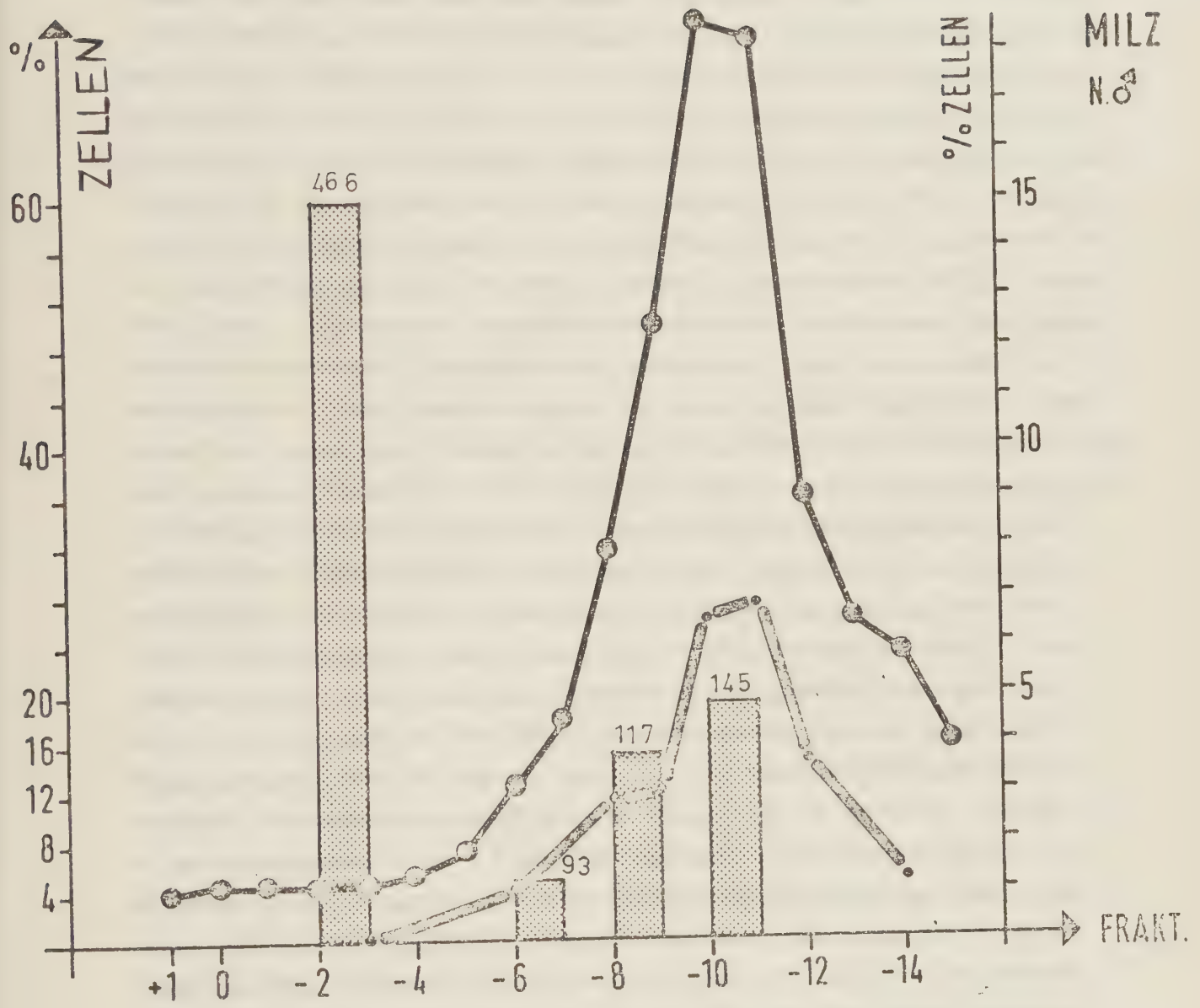


ABB:10



MILZ
N. 8

ABB:11

DISKUSSION

Die HCL ist seit ihrer Entdeckung als Sonderform leukämischer Erkrankungen bekannt und wird heute von den meisten Autoren (5,8,17,24) der lymphatischen, von einigen aber auch (4,14) der monozytären Reihe zugeordnet. Die Unklarheit über die Herkunft der Leitzellen dieser unbestritten neoplastischen Erkrankung liegt an der Vielfalt ihrer morphologischen Erscheinungsform. Bei keiner Leukämieart kommen so viele Diskrepanzen bei der Beschreibung der Morphologie wie bei der HCL vor (1,4,7,29,30,31,34). Die cytochemische Charakterisierung hat starke Argumente zugunsten der Theorie erbracht, daß es sich bei HC um lymphatische Elemente handelt (5,8,17,24). Es lassen sich nämlich Aktivitäten der sauren Phosphatase, hier sogar im Sinne eines Markerenzym (tartratresistent), nachweisen (35,37); darüber hinaus sind andere lymphozytenspezifische Reaktionen (B-Glucuronidase-Aktivität, PAS-Reaktion) vorhanden, wenn auch nicht so ausgeprägt wie bei Lymphoblasten und aktivierten Lymphocyten. Andererseits lassen sich Fermente der myeloischen Reihe (alkalische Leukocytenphosphatase-Aktivität) und typische monocytenspezifische Aktivitäten (Naphthol-ASD-Chloroazetat-Esterase und Lysozym) nicht nachweisen. Diese Befunde sprechen dafür, daß es sich bei den HC um Lymphocyten handelt; andererseits ergaben morphologische Analysen Abweichungen. Zwar lassen sich viele Strukturen von HC der lymphatischen Reihe zuordnen, jedoch die Eigentümlichkeiten der HC, die der Krankheit den Namen gegeben haben, weisen mehr auf Makrophagen hin - Fortsätze sprechen für amöboide Beweglichkeit. Wir sind deswegen hinsichtlich der Frage, ob es sich bei den HC a) um Lymphocyten oder b) um Makrophagen handelt oder ob HC eine polyklonale heterogene unterschiedliche Zellpopulation sind, mit einer Methode nachgegangen, die Zellen nach der Menge ihrer Oberflächenladung charakterisiert, was bisher bei HC nicht angewendet worden ist. Dabei haben wir die HC wie üblich nach ihren morphologischen Kriterien in drei verschiedene Gruppen unterteilt, nämlich in Zellen mit lockerem Kern und kurzen Fortsätzen, die man am ehesten Lymphoblasten zuordnen kann, weiter in Zellen, die einen typischen Kern peripherer Lymphocyten besitzen, aber sich von diesen durch einen gezähnelten Rand oder kleine plumpe Fortsätze

unterscheiden, und ferner in Zellen, die wie die vorigen Zellen aussehen, aber lange haarförmige Fortsätze haben.

Diesen morphologischen Kriterien kommen auch charakteristische elektrophoretische Beweglichkeiten zu, nämlich Typ II bildet zwei Maxima mit einem Zellgipfel im schnellen und einem im langsamen Bereich.

Typ I liegt mit seinem Maximum zwischen diesen beiden Gipfeln. Die niedrigste EPB besitzt Typ III. Es korreliert hier also eine funktionelle Methode, die die Dichte der elektrischen Ladung der Zelloberfläche benutzt, mit morphologischen Kriterien. Wie ZEILLER u. Ma. nachgewiesen haben, unterscheiden sich Lymphocyten unterschiedlicher Funktion durch ihre auf der Zelloberfläche befindlichen Ladungsdichte. Reife T-Zellen besitzen im Gegensatz zu den B-Zellen eine hohe EPB. T-Zell-Vorläufer besitzen dagegen eine geringe EPB, während B-Zell-Vorläufer sich durch eine hohe EPB auszeichnen. Die Zellen, die wir den HC zugerechnet haben, besitzen eine langsame EPB wie z.B. spätere Entwicklungsstufen der B-Zellen. Sie korrelieren also mit den von ZEILLER beschriebenen B-Zellen (38). Darüber hinaus sieht man bei HCL Zellen mit langsamerer EPB als die normalen B-Zellen.

Es ist weiter bekannt (41), daß 80 % der Blutlymphocyten eine hohe EPB besitzen, da es sich um T-Lymphocyten handelt. Es liegt daher der Schluß nahe, daß es sich bei HC um Zellen der B-Zellreihe handelt, wobei als Unterschied zum Normalen Zellen vorhanden sind, die eine noch geringere EPB besitzen als den B-Zellen zukommt. Die von uns durchgeführten funktionellen Untersuchungen belegen diese Hypothese, denn alle Zellen im negativen Bereich haben einen hohen Prozentsatz von Immunfluoreszenz-positiven Zellen. Umgekehrt haben wir im schnellen Bereich, der den T-Lymphocyten zukommt, keine Immunfluoreszenz-positiven Zellen gesehen. Hier haben wir es jedoch ausschließlich mit durch PHA stimulierbare Zellen zu tun. Unsere Untersuchungen legen also den Schluß nahe, daß es sich bei HC um Lymphocyten, und zwar um pathologische Formen der B-Zellreihe handelt. Andere Untersuchungen unseres Labors belegen (40), daß neoplastische entartete Blutzellen generell eine ähnliche EPB haben wie sein normales Korrelat.

SCHRIFTTUMVERZEICHNIS

1. C. ALBAHARY, J. RIPAULT, J. GUILLAUME, P. LEGLAND et
S. MARTIN

La réticulose histiolympocytaire avec myélofibrose
Presse Med. 35, 1531 (1970)

2. R.E. ANDERSON, ROY L. WALFORD

Fibroblastic type of leukemic reticuloendotheliosis
Cancer 16, 993 (1963)

3. B. BERG, L. BRANDT

The cytology, distribution and function of the neoplastic
cells in leukemic reticuloendotheliosis
Scand. J. Haemat. 7, 428 (1970)

4. M. BOIRON, G. FLANDRIN, J. RIPAULT, P. LORTHOLARY,
F. TEILLET, C. JACQUILLAT et J. BERNARD

Histio-lymphocytose médullaire et splénique d'apparence
primitive
Nouv. Rev. Franc. d'hématologie 8, 179 (1968)

5. H. BRAUNSTEINER, F. SCHMALZL, H. ASAMER

Zytologische Untersuchungen bei "Hairy-cell" - Leukämien
Acta Med. Austriaca 2, 35-41 (1974)

6. C.P. BURNS and J.C. HOAK

Freeze-etching, scanning, and thin-section electron micros-
copic studies of the "Hairy" leukocytes in leukemic reti-
culoendotheliosis
J. Nat. Cancer Inst. 51, 743 (1973)

7. D. CATOVSKY, J.E. PETTIT, D.A.G. GALTON, A.S.D. SPIERS,
and C.V. HARRISON +

Leukemic reticuloendotheliosis ('hairy cell leukaemia'):
a distinct clinico-pathological entity
Brit. Journal of Haemat. 26, 9 (1974)

8. D. CATOVSKY, J.E. PETTIT, J. GALETTO, A. OKOS and
D.A.G. GALTON

The b-lymphocyte nature of the hairy cell of leukemic
reticuloendotheliosis
Brit. J. Haemat. 26, 29 (1974)

9. D. CATOVSKY et al.

Scanning electron microscopy and the nature of the hairy cell
Lancet p. 462 (1975)

10. G. DUHAMEL et G. MARCHAL
Les réticuloses malignes localisées à la moelle osseuse
Nouv. Revue Franç. d'hémat. 2, 853 (1962)
11. G. DUHAMEL et L. GUERRA
La myélofibrose lymphoïde
Presse Med. 74, 585 (1966)
12. G. DUHAMEL, V.G. LEVY et M. OUAHNICH
Un cas de myélofibrose lymphoïde
La Semaine d. Hôpitaux, 53, 3450 (1967)
13. G. DUHAMEL
Lymphoid myelofibrosis
Acta haemat. (Basel) 45, 89 (1971)
14. M. TH. DANIEL and G. FLANDRIN
Fine structure of abnormal cells in hairy cell
(tricholeukocytic) leukemia, with special reference to their
in vitro phagocytic capacity
Lab. Investig. 30, 1 (1974)
15. J. FABRE, G. DELSOL, R. FEDON, J. PRIS
Etude des lésions hépatiques de la "hairy cell leukemia"
Virchows Arch. B (Zellpath.) 15, 139 (1974)
16. G. FLANDRIN, M. BOIRON, J. LASNERET, J. RIPAUT,
P. LORTHOLARY, J. TANZER et J. BERNARD
Etude par biopsie des infiltrations lymphocytaires de la
moelle osseuse
Presse Med. 75, 2497 (1967)
17. H.L. HAAK, J.C.H. DE MAN, W. HIGMANS, W. KNAPP and B. SPECK
Further evidence for the lymphocytic nature of leukemic
reticuloendotheliosis (hairy-cell leukemia)
Brit. J. Haemat. 27, 31 (1974)
18. J. HAOT, E.H. BETZ, L.J. SIMAR and L. REVESZ
Origin, morphologic and functional characteristics of a new
lymphoid cell type in irradiated mouse bone marrow
Acta Haemat. 51, 170 (1974)
19. E.S. JAFFE
Leukemic reticuloendotheliosis
Am. J. Med. 57, 108 (1974)
20. G.W. JAMES, A.R. GOODWIN
Leukemic reticuloendotheliosis: clinical and hematological
manifestations
Am. Clin. Ass. 75, 175 (1964)

21. R. JEAN, R. QUILICHINI, NAPOLIER, PESCE
Forme médullaire de la leucémie lymphoïde
Gazette d. Hôpitaux 33, 985 (1968)
22. I. KATAYAMA, C.Y. LI, L.T. JAM
Ultrastructural characteristics of the "hairy cells" of
leukemic reticuloendotheliosis
Amer. J. Pathol 67, 361 (1972)
23. P. LOPES CARDOZA
Chronische lymphatische Riederzellenleukämie
Schweiz.-Med. Wschr. 94, 1350 (1964)
24. S. MENDE, H.H. FÜLLE, I. WEIßENFELS
Diagnose und Differentialdiagnose der Haarzellleukämie
(Hairy cell leukaemia", "Leukämische Retikuloendotheliose")
Blut 30, 163-174 (1975)
25. W.J. MITUS, I.B. MODNICOFT, B. WITTELS, W. DAMESHEK
Neoplastic lymphoid reticulum cells in the peripheral blood:
a histochemical study
Blood 17, 206 (1961)
- 25a. W.J. MITUS
Hairy cells and isoenzymes
New England J. of Med. 284, 389 (1971)
26. W. MÖBIUS, H.H. HENNEKEUSER, M. WESTERHAUSEN,
C. STANG-VOSS, R. LESCH
Haarzell-Leukämie
Acta haemat. 53, 1-16 (1975)
27. I.H. PLENDERLEITH
Hairy cell leukemia
Canad. Med.-Ass. J. 102, 1056 (1970)
28. ST. ROATH, D.G. NEWELL
Cell-surface characteristics in hairy-cell leukemia
Lancet, p. 283 (1975)
29. A.D. RUBIN +. ST.D. DOUGLAS, L.N. CHESSIN, P.R. GLADE,
W. DAMESHEK
Chronic reticulolymphocytic leukemia
Reclassification of "leukemic reticuloendotheliosis" through
functional characterization of the circulating mononuclear
cells
Amer. J. Med. 47, 149 (1969)
30. B. SCHNITZER, L. KASS
Hairy-cell leukemia. A clinicopathologic and ultra-structural
study
Amer. J. Clin. Pathol. 61, 176 (1974)

31. R. SCHREK, W.J. DONNELLY
"Hairy" cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and "flagellated" cells of normal lymph nodes
Blood 27, 199 (1966)
32. R. SCHREK, H. RAPPAPORT, M.E. RUBNITZ, H.C. KWAAN
Cytology and reactions of viable cells from malignant lymphoma
Cancer 23, 1061 (1969)
33. S. TRUBOWITZ, B. MASEK, J.M. FRASCA
Leukemic reticuloendotheliosis
Blood 38, 288 (1971)
34. L.T. YAM, G.L. CASTOLDI, M.B. GARVEY, W.J. MITUS
Functional cytogenetic and cytochemical study of the leukemic reticulum cells
Blood 32, 90 (1968)
35. L.T. YAM, C.Y. LI, K.W. LAM
Tartrate-resistant acid phosphatase isoenzyme in the reticulum cells of leukemic reticuloendotheliosis
New Engl. J. Med. 284, 357 (1971)
36. L.T. YAM
Clinical significance of the human acid phosphatases
Am. J. Med. 56, 604 (1974)
37. L.T. YAM, C.Y. LI, H.E. FRINKEL
Leukemic reticuloendotheliosis
The role of tartrate-resistant acid phosphatase in diagnosis and splenectomy in treatment
Arch. Intern. Med. 130, 248 (1972)
38. K. ZEILLER, G. PASCHER, G. WAGNER, H.G. LIEBIG, E. HOLZBERG, K. HANNIG
Distinct subpopulation of thymus dependent lymphocytes
Immunology 26, 995 (1974)
39. R.C. LEIF, J. VINOGRAD
The distribution of bouyant density of human erythrocyts in bovine albumine solution
P.N.A.S. 51, 520 (1964)
40. J.C.F. SCHUBERT, F. WALTHER, E. HOLZBERG, G. PASCHER, K. ZEILLER
Preparative elektrophoretic separation of normal and neoplastic human bone marrow cells
Kli Wo 51, 327 (1973)
41. J.C.F. SCHUBERT, F. WALTHER
Different elektrophoretic distribution profiles of human bone marrow stem cells
Advances and biosciences 14, 299-308 (1974)

Herrn Professor Dr. med. J.C.F. Schubert danke ich herzlich für die Überlassung dieses Themas und für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 8. Mai 1940 wurde ich als Sohn des Oberst d.Sch.Pol. Willy Nickel und seiner Ehefrau Käthe geb. Ficker in Chemnitz geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Markneukirchen/Vogtland kam ich im Sommer 1951 in die Bundesrepublik und wurde am 16.8.1951 in das Staatliche Gymnasium Bad Schwartau aufgenommen. Dort legte ich am 9. März 1960 die Reifeprüfung ab.

Nach Ableistung meiner Wehrdienstzeit begann ich im Sommersemester 1961 an der Christian-Albrechts-Universität in Kiel das Studium der Naturwissenschaften. Nach dem Wintersemester 1962/63 wechselte ich zum Studium der Humanmedizin. Am 15.2.1969 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Nachdem ich meine Medizinalassistentenzeit am St. Joseph-Hospital in Bremerhaven absolviert hatte, erhielt ich am 28.2.1970 die Approbation als Arzt. Nach Ableistung der vorgeschriebenen Weiterbildung am selben Krankenhaus wurde mir am 12.5.1975 die Anerkennung als Facharzt für Innere Medizin ausgesprochen.

Seit dieser Zeit bin ich dort als Oberarzt tätig.

Bremerhaven, 1976

Hans-Joachim Nickel

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Charakterisierung der "Hairy Cells" mit Hilfe der trägerfreien, kontinuierlichen Zellelektrophorese" am Zentrum der Inneren Medizin der Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Professor Dr. med. J.C.F. Schubert ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit zur Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, 1976

Hans-Joachim Nickel

